

Priča o azitromicinu

KUI – 26/2011

Prispjelo 5. listopada 2011.

Prihvaćeno 4. studenog 2011.

*Z. Banić Tomišić**

Trnsko 12, 10 020 Zagreb

Izum azitromicina, djelatne tvari makrolidnog antibiotika *Sumamed* (tržišna marka u Hrvatskoj), pripada među najveća dostignuća u hrvatskoj znanstvenoj povijesti. S aspekta komercijalizacije znanstvenih istraživanja vjerojatno je najveće. Ovaj izum ujedno je i velik doprinos znanosti, medicini i poboljšanju kvalitete života na globalnoj razini. Iznimno terapijsko djelovanje učinilo je azitromicin jednim od najuspješnijih antibiotika na svjetskoj razini. Za nastanak azitromicina zaslužni su znanstvenici PLIVINA Istraživačkog instituta – dr. sc. S. Đokić, mr. sc. G. Kobrehel, dr. sc. G. Lazarevski i dr. sc. Z. Tamburašev. Azitromicin je prvi predstavnik nove klase 15-eročlanih makrolida, nazvane azalidi po dušiku uvedenom u eritromicinski prsten. Dobiven je u nekoliko sintetskih koraka: oksimacijom eritromicina A, Beckmannovom pregradnjom dobivena oksima eritromicina A s aromatskim sulfokloridima, zatim redukcijom iminoetera eritromicina A te konačno metiliranjem u eritromicinski prsten uvedenoga dušika. Današnje je uobičajeno kemijsko ime za azitromicin 9-deokso-9a-aza-9a-metil-9a-homoeritromicin A. U ovom je radu, u povodu tridesete godišnjice jugoslavenske patentne prijave za azitromicin, dan pregled istraživanja koja su dovela do izuma azitromicina te radova i patenata koji su ta istraživanja opisali i učinili dostupnima svjetskoj javnosti. Opisani su i pregovori te sklapanje ugovora između PLIVE, farmaceutske tvrtke vlasnika patenta i Pfizer, jedne od vodećih svjetskih farmaceutskih tvrtki, kojoj je PLIVA licencirala izum. Taj prvi i do sada najuspješniji primjer transfera znanja i tehnologije u Hrvatskoj, koji se dogodio još u drugoj polovici prošlog stoljeća, Svjetska organizacija za intelektualno vlasništvo (WIPO) na svojim internetskim stranicama navodi kao dobar primjer komercijalizacije rezultata istraživanja i proaktivne strategije licenciranja.

Ključne riječi: *Azitromicin, azalidi, makrolidni antibiotici, intelektualno vlasništvo, patent, transfer znanja i tehnologije, Sumamed, PLIVA*

Uvod

Tko nije čuo za azitromicin (**1**, slika 1) ili barem za *Sumamed*? Mnogi su imali prilike iskušati njegovo djelovanje na sebi. Ako se upotrijebi neoznanstvena, no brza metoda mjerenja globalne prepoznatljivosti i u internetski pretraživač¹ upiše riječ *azithromycin*, dobit će se 32 milijuna pogodaka. Za usporedbu, Google¹ za azitromicinova prethodnika *erythromycin* nudi 35,5 milijuna, za *Barack Obama* 250 milijuna, a za *Croatia* 402 milijuna pogodaka. Može se zaključiti da je prepoznatljivost azitromicina, trideset godina nakon njegovog izuma, respektabilna.

Azitromicin je danas među najprodavanijim antibioticima.² Izumljen je u Istraživačkom institutu hrvatske farmaceutske tvrtke PLIVE,³ a na tržište je stavljen u suradnji s danas najvećom svjetskom farmaceutskom tvrtkom u području novih lijekova, Pfizerom.⁴ Za vrijeme trajanja patentne zaštite azitromicin se na tržištu prodavao isključivo pod tržišnim markama (engl. *brand name*) originatora i vlasnika licencije – *Sumamed* (PLIVA) i *Zithromax* (Pfizer), u obliku azitromicina dihidrata. Patentna zaštita za azitromicin kao djelatnu tvar, temeljena na PLIVINIM patentnim prijavama iz 1979. i 1981. te Pfizerovoj patentnoj prijavi iz 1982., istekla je u većini zemalja svijeta polovicom prošlog desetljeća, što je omogućilo drugim farmaceutskim tvrtkama da na tržište izađu sa svojim generičkim formulacijama.^{5,6} Danas je azitromicin (kao djelatna tvar) generički lijek, no azi-

tromicin dihidrat (kao oblik) još je uvijek patentno zaštićen u SAD-u do 2018. od strane Pfizer. Tijekom više od dva desetljeća distribucije na domaćem tržištu, zbog svoje iznimne kvalitete, ugleda i prepoznatljivosti, *Sumamed* je dobio atribut "Izvorno hrvatsko".⁷

Azitromicin se danas upotrebljava kao vrlo učinkovit lijek za liječenje raznih bakterijskih infekcija⁸ gornjih i donjih dišnih puteva, infekcija kože i potkožnog tkiva, spolno-prenosivih bolesti, infekcija želuca i dvanaesnika, upale zdjelice te sve više i za prevenciju bakterijskih infekcija u djece i onih sa slabim imunitetom. Spekter antibakterijskog djelovanja azitromicina sličan je eritromicinu, no učinkovitiji je u borbi protiv anaerobnih i Gram-negativnih bakterija posebice protiv bakterije *Haemophilus influenzae*.

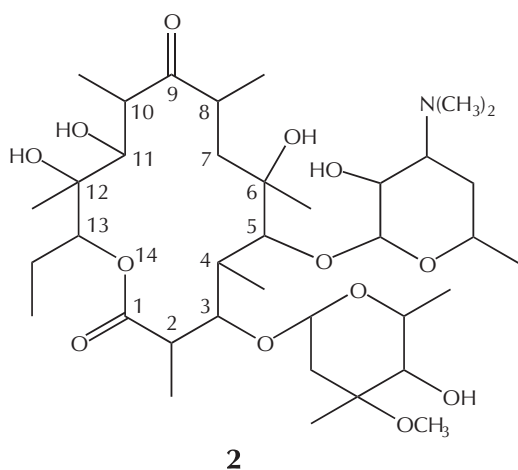
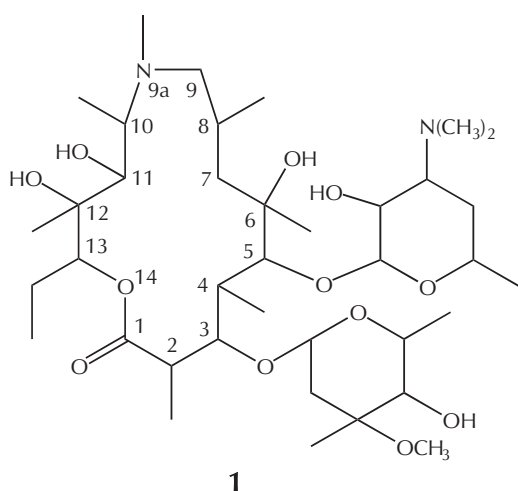
Azitromicin djeluje ciljano prenoseći se do mjesta infekcije putem bijelih krvnih stanica. Veže se na podjedinicu 50S bakterijskog ribosoma sprječavajući sintezu bakterijskih proteina, čime onemogućava rast i razmnožavanje bakterije. U upaljenim tkivima postiže visoku koncentraciju te se u njima zadržava i nakon prestanka uzimanja lijeka. Azitromicin je stabilniji od eritromicina u kiselim uvjetima, pa mu ne treba zaštita od želučanih kiselina.

Interesantno je napomenuti da je vezanje azitromicina na ribosom kristalografski proučavao i jedan Hrvat, dr. sc. Ante Tocilj, i to u sklopu rada na istraživanju strukture i funkcije ribosoma, za koji su Nobelovu nagradu za kemiju 2009. podijelili prof. dr. sc. Ada E. Yonath, prof. dr. sc. Thomas A.

* Dr. sc. Zrinka Banić Tomišić, e-pošta: zbaniictomistic@gmail.com

Steitz (u čijoj je grupi tada radio još jedan Hrvat prof. dr. sc. Nenad Ban) te prof. dr. sc. Venkatraman Ramakrishnan. Predavanje upravo na ovu temu prof. dr. sc. A. Yonath održala je u Zagrebu na ovogodišnjem *XXII. hrvatskom skupu kemičara i kemijskih inženjera*.⁹

Kemijski gledano, azitromicin je nastao transformacijom makrolidnog antibiotika eritromicina A (**2**, slika 1) uvođenjem dušika u 14-eročlani eritromicinski prsten, proširujući ga tako na 15-eročlani, te naknadnim metiliranjem uvedenoga dušika. Tako je nastala nova potklasa makrolida, po dušiku uvedenom u prsten nazvana azalidi, čiji je prvi i najpoznatiji predstavnik azitromicin. Naziv azalidi prvi je put upotrijebljen 1988. godine, sedam godina nakon izuma azitromicina, u radu¹⁰ objavljenom u časopisu *The Journal of Antibiotics*. Azitromicin je postao zlatni standard za makrolidne antibiotike.



Slika 1 – Azitromicin i eritromicin

Fig. 1 – Azithromycin and erythromycin

No kako je sve počelo? Kako je azitromicin, tj. *Sumamed* postao prepoznatljiva tržišna marka u doba kada se o važnosti tržišnih marki još nije niti razmišljalo? Kako je došlo do ove velike inovacije u doba kada je rijetko tko u tadašnjoj državi sustavno pristupao zaštiti i komercijalizaciji intelektualnog vlasništva, transferu znanja i tehnologije te inovacijama?

O azitromicinu postoje različite priče, ne uvijek istinite, pa je tako netočan dio teksta iz hrvatske Wikipedije¹¹ koji glasi: "... spoj je patentiran i praktički bačen u ladicu da bi (ga op. a.) Pfizerovi znanstvenici ponovno pronašli prelistavajući dokumentaciju patentiranih kemijskih spojeva". Pokušajmo zato, u povodu tridesete godišnjice prijave izuma azitromicina, ispričati priču o njemu iz prve ruke, uz pomoć dviju od njegovih četvero izumitelja – mr. sc. Gabrijele Kobrehel i dr. sc. Gorjane Lazarevski, služeći se pri tome dostupnim PLIVINIM pregledima istraživačkog rada iz toga doba.^{12–14} Priču ćemo potkrijepiti ključnim radovima i patentima, i osvrnuti se posebno na sintetsku kemiju u razdoblju od 1970. do 1990.

Sinteza i patenti

Priča započinje u PLIVI, u njezinu Istraživačkom institutu, krajem sedamdesetih godina dvadesetoga stoljeća. No pravi početak dogodio se još mnogo ranije, u prvoj polovici dvadesetoga stoljeća kada je definirana strategije PLIVINE prethodnice, tvornice Kaštel, dioničkog društva, u čemu je sudjelovao i Nobelovac prof. dr. sc. Vladimir Prelog, a koja je, uz proizvodnju već poznatih lijekova (danas bismo rekli generika), uključivala i istraživački rad na novim kemijskim entitetima (tzv. *proprietary* poslovanje). Tako je PLIVA (tj. tadašnji Kaštel, jer PLIVA nastaje tek 1942. spajanjem Kaštela i Državnog zavoda za proizvodnju lijekova i vakcina, po kojem dobiva i ime PLIVA), već na samom početku imala dvojnju strategiju razvoja, koja će se ponovno aktualizirati u korporativnoj strategiji na samom kraju dvadesetoga stoljeća. Dugogodišnje poticanje znanstveno-istraživačkog rada rezultiralo je 1952. godine osnivanjem PLIVINA Istraživačkog instituta (PLIVA je u to doba nosila naziv: PLIVA farmaceutska, kemijska, prehrambena i kozmetička industrija).

U sklopu rada na novim kemijskim entitetima, u Laboratoriju za kemijske transformacije antibiotika Biokemijskoga odjela, a kasnije u Odjelu za kemiju prirodnih spojeva Istraživačkoga instituta, šezdesetih i sedamdesetih godina prošlog stoljeća radilo se, između ostalog, na derivatima eritromicina A. Eritromicin je u to doba bio već dobro poznat makrolidni antibiotik antibakterijskog spektra nešto šireg od spektra penicilina. Prvi PLIVINI izumi na tom području, autora S. Đokić i Z. Tamburašev, prijavljeni su još sredinom 1960-ih i štitili su pripravu oksima eritromicina A¹⁵ i eritromicilamina,¹⁶ važnih intermedijera u sintezi druge generacije makrolidnih antibiotika (azitromicina, klaritromicina, roksitromicina i diritromicina). Dr. sc. Zrinka Tamburašev je na temu eritromicina obranila i doktorsku disertaciju¹⁷ 1965. godine na Tehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Godine 1967. rezultati početnih istraživanja na eritromicinu publicirani su u časopisu *Tetrahedron Letters*.¹⁸ U Institutu se radilo i na sulfonamidnim derivatima eritromicilamina. Taj je istraživački rad bio logičan nastavak PLIVINIH uspjeha iz tridesetih godina kada je Kaštel na tržište stavio (1936.) patentno zaštićen bakteriostatik sulfanilamid, pod imenom *Streptazol*. Ideja dr. sc. Slobodana Đokića (rođen 1926., umro 1994., u PLIVI se zaposlio nakon diplomiranja 1952.),¹⁹ tadašnjeg voditelja prije spomenutoga Odjela za kemiju prirodnih spojeva (1963. – 1971.), a kasnije direktora Istraživačkoga instituta (1972. – 1989.), bila je spojiti sul-

fonamide s makrolidima i tako riješiti problem unakrsne rezistencije.

U to su doba pod vodstvom dr. sc. S. Đokića na kemijskim transformacijama makrolidnih antibiotika radile dr. sc. Zrinka Tamburašev (rođena 1921., umrla 2003., u PLIVU došla 1957. iz Galenike)¹⁹ te tada mlade istraživačice mr. sc. Gabrijele Kobrehel (rođ. Vazdar)¹⁹ i dr. sc. Gorjana Lazarevski (rođ. Radobolja)¹⁹ koje se u PLIVI zapošljavaju 1964., odnosno 1969. godine, odmah nakon što su diplomirale na Tehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Istraživanja su u razdoblju od jedanaest godina (1967. – 1978.) rezultirala s četiri patenta,^{20–23} sedam znanstvenih radova^{24–30}, magistarskim radom mr. sc. Tomislava Lazarevskog³¹ 1974. godine te magistarskim radovima mr. sc. Gabrijele Kobrehel³² i dr. sc. Gorjane Lazarevski³³ 1977. godine.

Patent za Beckmannovu pregradnju

Sredinom sedamdesetih godina dr. sc. S. Đokić predlaže da se analogno *N*-(supstituiranim-benzensulfonil)-derivatima eritromicilamina sintetiziraju odgovarajući sulfoesteri oksima eritromicina A. Međutim, tijekom reakcije aciliranja oksima dolazi do spontanog Beckmannova pregrađivanja oksima (**3**, slika 2) te, uz sudjelovanje 6-OH-skupine aglikonskog prstena, do nastajanja bicikličkog iminoetera eritromicina A (**4**, slika 2). Katalitičkom redukcijom iminoetera **4** dobiven je 9-deokso-9-dihidro-9a-aza-9a-homoeritromicin A (**5**, slika 2). On je, u usporedbi s eritromicinom A, pokazao dobru antibakterijsku aktivnost na više bakterijskih sojeva, a posebice na Gram-negativne bakterije. Postupci priprava 9-deokso-9-dihidro-9a-aza-9a-homoeritromicina A i njegovih derivata, supstancije i njihove antibakterijske aktivnosti patentno su zaštićeni (izumitelji: mr. sc. G. Kobrehel, dr. sc. G. Lazarevski, dr. sc. Z. Tamburašev i dr. sc. S. Đokić, slika 3) 1979. godine u Jugoslaviji (jugoslavenska patentna prijava 2. 4. 1979.),³⁴ 1980. godine u SAD-u (američka patentna prijava 28. 3. 1980., slika 4),³⁴ te u Sovjetskom Savezu, Japanu i nekim europskim zemljama. To je ujedno prvi patent koji je opisao uvođenje dušika u aglikonski dio molekule eritromicina i pripravu jednog od najvažnijih intermedijera u sintezi azitromicina. Rezultati ovih istraživanja objavljeni su 1986. i 1987. godine u časopisima *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*³⁵ i *The Journal of Antibiotics*.³⁶

Reakcijska shema na slici 2 danas izgleda jednostavno, no u laboratorijskoj praksi, prije trideset godina, uz tada vrlo ograničene analitičke metode, bilo je posve drugačije. Naime, očekivalo se da će Beckmannovo pregrađivanje oksima **3** jednoznačno dati 9a-laktam **6** (slika 5), koji bi bio uobičajen produkt ove reakcije. Međutim, TLC-analiza pokazala je prisutnost dviju supstancija, glavne – nazvane LG, i nusprodukta – nazvanog LD (slika 5). U spektru masa LD je pokazivao molekulski ion za koji je $m/z = 748$, što je odgovaralo molekulskoj masi laktama, dok je LG imao molekulsku masu nižu za jednu molekulu vode. Na osnovi fizikalno-kemijskih konstanti i sklonosti intramolekularnoj ciklizaciji 6-OH-skupine poznatoj iz literature, pretpostavljena je 6,9-biciklička iminoeterska struktura spoja **4** (slike 2 i 5). Katalitičkom redukcijom spoja **4** dobiven je produkt **5** (slika 2), čija je struktura cikličkog amina potvrđena fizikalno-kemijskim konstantama i sintezom odgovarajućih *O*- i *N*-supstituiranih derivata. Spoj **4** patentno je zaštićen (prijava

izuma 1979.)³⁴ postupkom priprave i fizikalno-kemijskim konstantama, a bez definirane strukture, kao ključni među-produkt u sintezi do tada neopisanog 15-eročlanog azamakrolida. Struktura 6,9-iminoetera **4** potvrđena je poslije (1980-ih) rendgenskom strukturnom analizom njegova aglikona dobivenog kiselokataliziranom hidrolizom obaju šećera.³⁵

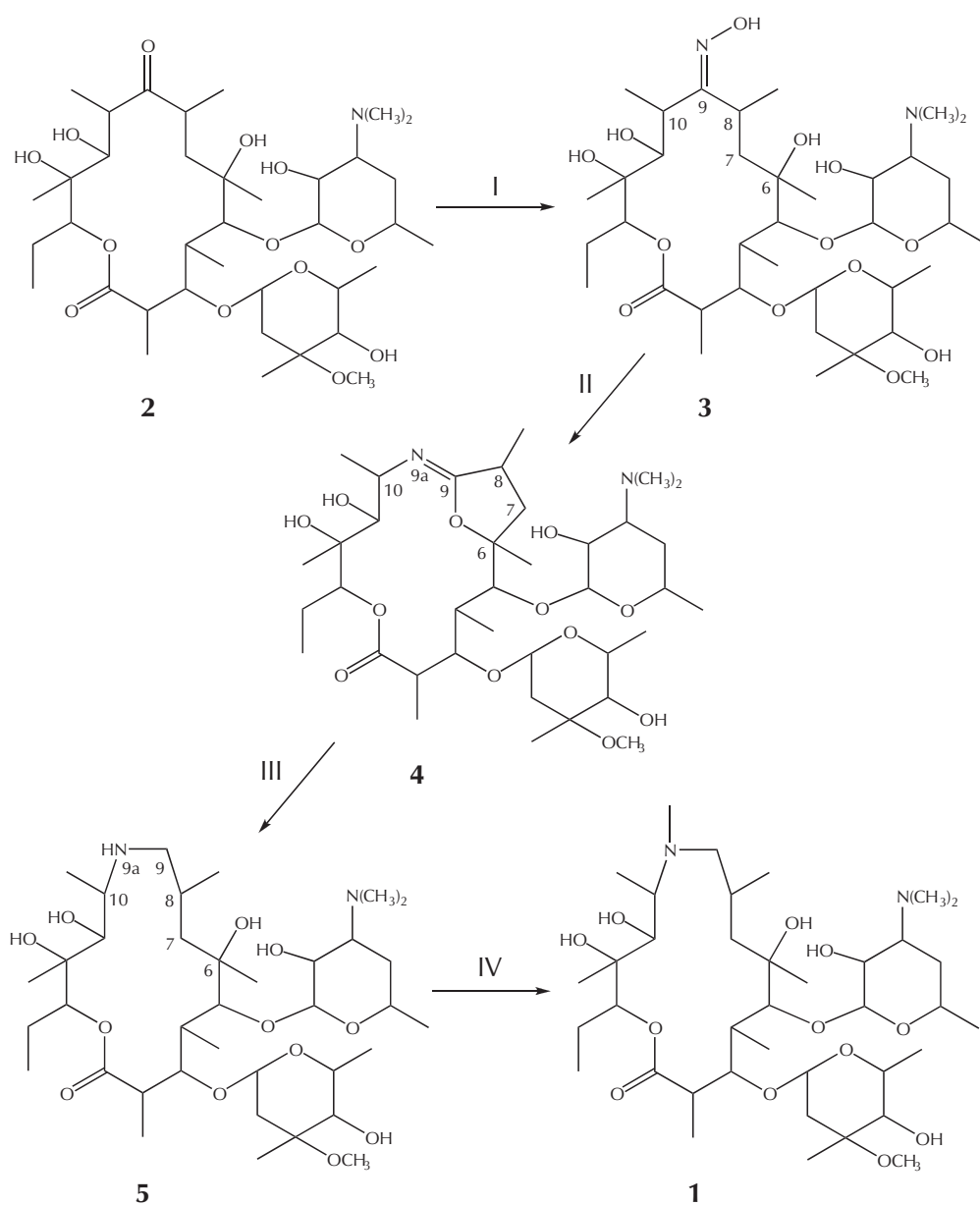
Za razliku od LG-a **4** (slika 5), LD je bio otporan čak i na žestoke uvjete katalitičke redukcije. Njegova je struktura riješena tek 1990-ih godina zahvaljujući modernim NMR-tehnikama, koje su pokazale da je došlo do otvaranja prstena i nastanka lančaste strukture seco-makrolida **7** (slika 5). Ovi su rezultati također patentno zaštićeni 1997. godine³⁷ i 1998. publicirani u časopisu *The Journal of Antibiotics*.³⁸

Patent za azitromicin

Dvije godine nakon proširenja prstena, reduktivnim *N*-metiliranjem amina **5** dobiven je azitromicin **1** (slika 2). Patentno su zaštićeni supstancija, postupak priprave i uporaba (antibakterijska aktivnost). Izumitelji su bili dr. sc. S. Đokić i mr. sc. G. Kobrehel. Jugoslavenska patentna prijava predana je u ožujku 1981.³⁹ Tijekom 1981. i 1982. ovaj je izum PLIVA prijavila u ukupno 17 zemalja svijeta (Jugoslavija – poslije Hrvatska, Slovenija i Makedonija, SAD, Kanada, Japan, Sovjetski Savez, Belgija, DDR i GDR – kasnije ujedinjene u Saveznu Republiku Njemačku, Austrija, Poljska, Velika Britanija, Švicarska, Italija, Švedska, Mađarska, Francuska, Meksiko). Prvi međunarodni patent priznat je u Belgiji u srpnju 1982.³⁹ Američka prijava izuma predana je u rujnu 1981., a američki patent dobiven je tek četiri godine poslije, u svibnju 1985.³⁹ (slika 6), nakon mnogih izmjena u patentnoj prijavi. Sinteza azitromicina publicirana je 1988. godine u časopisu *Journal of Chemical Research*.⁴⁰

Uobičajeno vrijeme trajanja patentne zaštite jest dvadeset godina od datuma prijave patenta. U slučajevima kada je priznavanje patenta trajalo dugo, patent je mogao važiti sedamnaest godina od datuma priznanja. Tijekom važenja patenta može se zatražiti i tzv. ekstenzija patenta, koja, ako se odobri, može njegovo važenje produljiti najviše pet godina. PLIVIN je američki patent za azitromicin,³⁹ s ekstenzijom, važio do studenoga 2005. U većini zemalja svijeta gdje je bio priznat PLIVIN patent za azitromicin prestao je važiti između 2001. i 2006. Kako se patent za azitromicin³⁹ temeljio na patentu iz 1979.³⁴ koji je zaštitio sve intermedijere za proizvodnju azitromicina kao konačnog produkta, za komercijalnu su eksploataciju od važnosti bila oba patenta.^{34,39} Važno je uočiti da je patent za azitromicin štitio azitromicin kao supstanciju, no ne i njegove moguće polimorfe.

Današnje je uobičajeno ime za azitromicin (**1**, slika 1): 9-deokso-9a-aza-9a-metil-9a-homoeritromicin A u kojem je zadržano tradicionalno eritromicinsko brojenje. U američkom patentu azitromicin se naziva kemijskim imenom (po IUPAC-u): 11-metil-11-aza-4-*O*-kladinozil-6-*O*-desozaminil-15-etil-7,3,14-trihidroksi-3,5,7,9,12,14-heksametil-oksaciklopentadekan-2-on.³⁹ U hrvatskom (jugoslavenskom) patentu azitromicin dolazi pod imenom *N*-metil-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicin A,³⁹ koje je kombinacija imena za eritromicin i ne-eritromicinskog brojenja atoma u prstenu (uvedeni dušik ima broj 11, umjesto



2 eritromicin A
2 erythromycin A

3 oksim eritromicina A
3 erythromycin A oxime

4 iminoeter eritromicina A
4 erythromycin A iminoether

5 9-dihidro-9-deokso-9a-aza-9a-homoeritromicin A
5 9-dihydro-9-deoxo-9a-aza-9a-homoerythromycin A

1 azitromicin
1 azithromycin

I: H_2NOH (oksimacija)
I: H_2NOH (oximation)

II: RSO_2Cl , lužnato (Beckmannova pregradnja)
II: RSO_2Cl , alkaline (Beckmann rearrangement)

III: H_2/Pt (katalitičko hidrogeniranje)
III: H_2/Pt (catalytic hydrogenation)

IV: $\text{HCO}_2\text{H}/\text{HCHO}$ (Eschweiler-Clarkeovo metiliranje)
IV: $\text{HCO}_2\text{H}/\text{HCHO}$ (Eschweiler-Clarke methylation)

Slika 2 – Sinteza azitromicina

Fig. 2 – Synthesis of azithromycin



Slika 3 – Izumiteljska četvorka: mr. sc. G. Kobrehel, dr. sc. S. Đokić, dr. sc. G. Lazarevski i dr. sc. Z. Tamburašev (s lijeva na desno)

Fig. 3 – The four inventors: M. Sc. G. Kobrehel, D. Sc. Đokić, D. Sc. G. Lazarevski and D. Sc. Z. Tamburašev (left to right)

9a) što nije dosljedno. Bruto-formula azitromicina je $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, a molarna masa 748,98 g mol⁻¹.

Daljnja istraživanja u području azitromicinske kemije u PLIVINU Istraživačkom institutu rezultirala su, u desetak godina nakon sinetaze azitromicina, većim brojem patenta^{41–47} i radova.^{48–52} Detaljan pregled sintetske kemije i antibakterijske aktivnosti azalida sintetiziranih u PLIVINU Istraživačkom institutu do 2005. godine, kada je PLIVIN Istraživački institut prodan GlaxoSmithKlineu – jednoj od vodećih svjetskih farmaceutskih tvrtki, dan je u preglednim radovima autora Schöenfelda i Mutaka⁵³ i Mutaka⁵⁴ te radovima koji ovi autori citiraju.

Partneri i ugovor o licenciji

Preliminarna antibakterijska testiranja novosintetiziranih spojeva provedena su u PLIVI. Na jednoj međunarodnoj konferenciji dr. sc. S. Đokić stupio je u kontakt s japanskom tvrtkom Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd. (današnji Dainippon Sumitomo Pharma),⁵⁵ koja je napravila daljnja antibakterijska testiranja azitromicina *in vitro* i *in vivo*, no mada se nakon vrlo dobrih rezultata antibakterijske aktivnosti ta tvrtka nametala kao logičan partner, do daljnje suradnje nije došlo. No rezultate testiranja azitromicina Dainippon je prepustio PLIVI. Bilo je to doba kada mnogi današnji komunikacijski kanali još nisu niti postojali, a PLIVA je tada funkcionirala u okviru Jugoslavije tako da partnere za nastavak skupih istraživanja nije bilo nimalo lako naći. Stoga je vodstvo Instituta već praktički ugasilo Projekt i istraživače rasporedilo na nove zadatke. No situacija se ubrzo posve mijenja. Godine 1982. dr. sc. Lidija Kolačny-Babić prijavljuje sudjelovanje na Mediteranskom kongresu kemoterapije u Dubrovniku s rezultatima antibakterijske aktivnosti azitromicina. Nažalost, zbog nedostatka sredstava dr. sc. L. Kolačny-Babić nije prisustvovala Kongresu, no njezin je sažetak iz Knjige sažetaka prenio Scrip.⁵⁶ Nakon objave tih rezultata u Scripu PLIVI se javilo nekoliko velikih farmaceutskih tvrtki – Glaxo, Bristol-Myers, Abbot i Pfizer, pokazujući interes za azitromicin i tražeći uzorke. Istraživačka se

United States Patent [19]		[11]	4,328,334
Kobrehel et al.		[45]	May 4, 1982
[54]	11-AZA-10-DEOXY-10-DIHYDROERYTHROMYCIN A AND DERIVATIVES THEREOF AS WELL AS A PROCESS FOR THEIR PREPARATION	[52]	U.S. Cl. 536/7.4; 424/180
[58]	Field of Search	[58]	536/9
[75]	Inventors: Gabrijela Kobrehel; Gordana Radobolja; Zrinka Tamburasev; Slobodan Djokic, all of Zagreb, Yugoslavia	[56]	References Cited U.S. PATENT DOCUMENTS 3,478,014 11/1969 Djokic et al. 536/9 3,574,185 4/1971 Tamburasev et al. 536/9 3,652,537 3/1972 Massey et al. 536/9
[73]	Assignee: PLIVA Pharmaceutical and Chemical Works, Zagreb, Yugoslavia		Primary Examiner—Johnnie R. Brown Attorney, Agent, or Firm—Pollock, Vande Sande & Priddy
[21]	Appl. No.: 134,816		
[22]	Filed: Mar. 28, 1980		
[30]	Foreign Application Priority Data Apr. 2, 1979 [YU] Yugoslavia 768/79	[57]	ABSTRACT 11-aza-10-deoxy-10-dihydroerythromycin A and derivatives thereof, and process for preparation thereof.
[51]	Int. Cl. ³ A61K 31/71; C07H 17/08		24 Claims, No Drawings

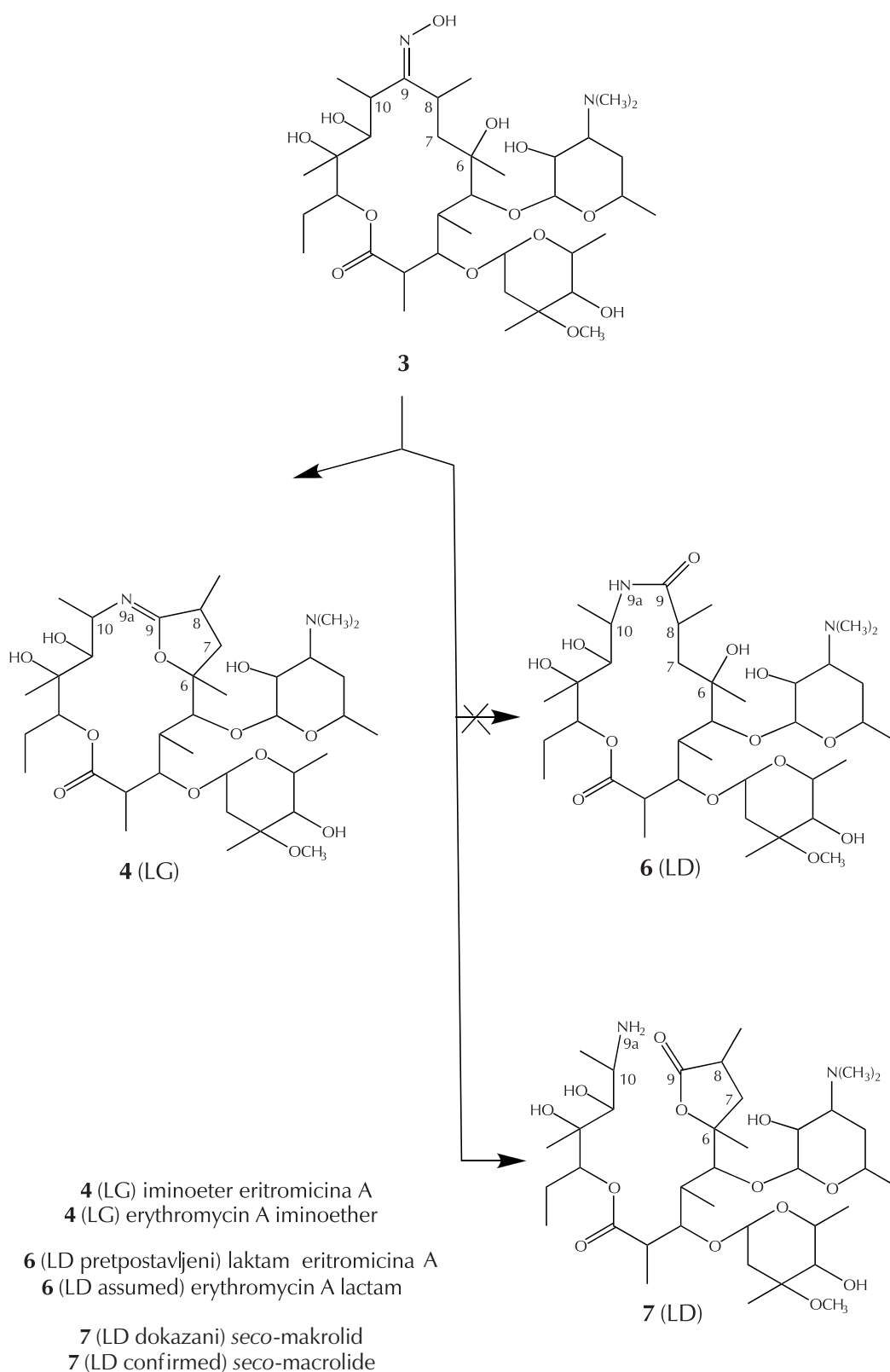
Slika 4 – Američki patent za Beckmannovo pregrađivanje (izumitelji: G. Kobrehel, G. Radobolja, Z. Tamburašev i S. Đokić, PLIVA)

Fig. 4 – USA patent for Beckmann rearrangement (inventors: G. Kobrehel, G. Radobolja, Z. Tamburašev and S. Đokić, PLIVA)

grupa ponovno konstituira, a pridružuje joj se i mr. sc. Nevenka Lopotar (rođena 1940., umrla 2010.) koja je upravo magistrirala na eritromicinu,⁵⁷ te zajedno s mr. sc. G. Kobrehel radi na optimizaciji laboratorijskih postupaka.

Ne treba zaboraviti da je to doba kada nije bilo interneta, e-pošte, telefonskih konferencija, čak niti računala. Pregovori su se stoga odvijali putem telefona, telefaksa i na zajedničkim sastancima. Na kraju je PLIVA kao strateškog partnera odabrala američku tvrtku Pfizer,⁴ već tada jednu od najvećih svjetskih farmaceutskih tvrtki. Pregovori s Pfizerom trajali su nekoliko godina – od prvih kontakata krajem 1982. do sklapanja ugovora 1986. i 1987.

Tijekom pregovora pokazalo se da je Pfizer također radio na azitromicinu te da je i sam predao dvije patentne prijave u SAD-u, ali i u drugim zemljama koje su relevantne za područje pregovora (tablica 1): u srpnju 1982. američku patentnu prijavu za azitromicin i njegove soli, proces njihove pripreme i antibakterijsku aktivnost⁵⁸ te u lipnju 1983. američku patentnu prijavu za *N*-etil- i *N*-propil-derivate (vs. *N*-metil-derivat, tj. azitromicin) i njihove soli, proces njihove pripreme i antibakterijsku aktivnost.⁵⁹ Pfizerova američka patentna prijava za azitromicin (19. 7. 1982.) uslijedila je šesnaest mjeseci nakon jugoslavenske prijave PLIVINA patenta za azitromicin (6. 3. 1981.), koja je bila na hrvatskom jeziku, te nije bila relevantna za SAD, deset mjeseci nakon PLIVINE američke prijave (22. 9. 1981.) i osamnaest dana nakon što je priznat PLIVIN belgijski patent (1. 7. 1982.). Pfizer, u trenutku kada je 1982. prijavljivao svoj patent za azitromicin, vjerojatno još nije znao za PLIVINU američku patentnu prijavu za azitromicin iz 1981., no mogao je znati za PLIVIN američki patent koji zaštićuje Beckmannovu pregradnju, ali i za patent za azitromicin koji je priznat u Belgiji (tablica 1). Interesantno je da patentni ispitivači, kada su razmatrali stanje tehnike ispitujući Pfizerov patent, nisu uzeli u obzir PLIVIN belgijski patent priznat za azitromicin. Tako je azitromicin jedinstven slučaj u kojem su za zaštitu iste supstancije u SAD-u priznata dva patenta – i PLIVI i Pfizeru. No bez obzira na patent za azitromicin kao supstanciju,³⁹ PLIVIN glavni adut bio je patent iz 1979.,³⁴ koji je štitio prekursore u sintezi azitromicina.



Slika 5 – Beckmannova pregradnja – pretpostavljeni i dokazani reakcijski produkti

Fig. 5 – Beckmann rearrangement – assumed and confirmed reaction products

United States Patent [19]**Kobrehel et al.**[11] **Patent Number:** **4,517,359**[45] **Date of Patent:** **May 14, 1985**

[54] **11-METHYL-11-AZA-4-O-CLADINOSYL-6-O-DESOSAMINYL-15-ETHYL-7,13,14-TRIHYDROXY-3,5,7,9,12,14-HEXAMETHYLOXACYCLOPENTADECANE-2-ONE AND DERIVATIVES THEREOF**

[75] Inventors: **Gabrijela Kobrehel; Slobodan Djokic**, both of Zagreb, Yugoslavia

[73] Assignee: **Sour Pliva farmaceutska, kemijska prehrambena i kozmeticka industrija, n.s.o.**, Zagreb, Yugoslavia

[21] Appl. No.: **304,481**

[22] Filed: **Sep. 22, 1981**

[30] **Foreign Application Priority Data**
Mar. 6, 1981 [YU] Yugoslavia 592/81

[51] **Int. Cl.**³ **C07H 17/08**

[52] **U.S. Cl.** **536/7.4**

[58] **Field of Search** 536/9, 7.4[56] **References Cited**

U.S. PATENT DOCUMENTS

4,283,527 8/1981 Scialolino 536/7.4
4,328,334 5/1982 Kobrehel et al. 536/7.4

Primary Examiner—Nick Chan
Attorney, Agent, or Firm—Pollock, Vande Sande & Priddy

[57] **ABSTRACT**

11-Methyl-11-aza-4-o-cladinosyl-6-o-desosaminyl-15-ethyl-7,13,14-trihydroxy-3,5,7,9,12,14-hexamethyl-oxacyclopentadecane-2-one and derivatives thereof, such as the 13,14-carbonate and C₁-C₃-alkanoyl derivatives thereof. The compounds exhibit antibacterial activity.

1 Claim, No Drawings

Slika 6 – Američki patent za azitromicin (izumitelji: G. Kobrehel i S. Đokić, PLIVA)

Fig. 6 – USA patent for azithromycin (inventors: G. Kobrehel and S. Đokić, PLIVA)

Također je interesantno uočiti da je PLIVIN patent za azitromicin u SAD-u, mada je prijava podnesena prije Pfizerove (tablica 1), dobiven tek nakon što je odobren Pfizerov patent. Zahtjevi patentnih ispitivača za mnogo-brojnijim izmjenama na kraju su rezultirali priznavanjem patenta samo za supstanciju.

Za usporedbu tadašnjih snaga ovih dviju kompanija, ali i društvenih i ekonomskih uvjeta u kojima su poslovale, može poslužiti činjenica da je Pfizer u razdoblju 1970. – 1990. imao oko 1700 prijava izuma, dok ih je PLIVA u istom razdoblju imala za red veličine manje.⁶⁰ Pfizerovo je istraživanje tada uključivalo oko četiri tisuće istraživača, dok je PLIVINO opet deset puta manje.⁶¹ Imajući na umu razvijenost SAD-a i Jugoslavije, ova zadnja činjenica bitno pridonosi značaju izuma PLIVINIH istraživača.

Između PLIVE i Pfizera sklopljene su tri različite vrste ugovora, uobičajene u takvim slučajevima – opcijski, licencni i ugovor o opskrbi. Kasnije je sklopljeno još nekoliko aneksa. Opcijski je ugovor odredio vrijeme tijekom kojeg se Pfizer, uz naknadu, trebao odlučiti hoće li potpisati licencni ugovor. Licencni je ugovor dao Pfizeru ekskluzivno pravo (s pravom podlicenciranja) da pod određenim pravnim i financijskim uvjetima iskorištava PLIVINO intelektualno vlasništvo, tj. u ovom slučaju patent. Ugovor o opskrbi definirao je politiku proizvodnje i nabave sirovine.

Prema sklopljenim ugovorima, Pfizer je dobio pravo da proizvodi i prodaje azitromicin u obliku gotovog proizvoda u gotovo svim zemljama svijeta osim u Jugoslaviji i zemljama bivšeg istočnog bloka (SSSR, Rumunjska, Bugarska, Poljska, ČSSR, DDR, Mađarska, Albanija, Kuba, Sjeverna Koreja, Afganistan, Iran, Irak, Libija, Mongolija), u kojima je pravo na prodaju zadržala PLIVA (tzv. PLIVIN teritorij). Ujedinjenjem Njemačke cijelo njemačko tržište, prema aneksu, pripalo je Pfizeru. Dogovoreno je da Pfizer za prodaju gotovog oblika PLIVI plaća tantijeme (engl. *royalty*). Pfizer je također imao obvezu otkupa PLIVINE sirovine, tj. PLIVA je bila isključivi proizvođač sirovine za Pfizerovu proizvodnju gotovog proizvoda za SAD i većinski za ostatak svijeta, a to

je, u fazi pregovora, bio jedan od faktora zašto je kao partner odabran upravo Pfizer.

Nakon sklapanja ugovora PLIVA i Pfizer nastavili su zajednički rad i razmjenu informacija na optimizaciji sinteze, formulaciji, pratećoj analitici, pretkliničkim i kliničkim istraživanjima, optimizaciji proizvodnje itd., za što je PLIVA Pfizeru isporučivala supstanciju. Prve poluindustrijske količine azitromicina kao sirovine proizvedene su u PLIVI 1986., a tijekom 1988. završena je pokusna proizvodnja te se početkom 1989. godine krenulo u redovitu proizvodnju. Nakon registracije, koristeći se vlastitim tehnološkim postupkom, PLIVA je azitromicin, kao gotov proizvod, pod tržišnom markom *Sumamed*, 1988. godine stavila na tržište Jugoslavije te zatim i istočne Europe. Pfizer je na tržište sa svojom tržišnom markom *Zithromax* izašao 1991. u SAD-u, a zatim i u ostatku svijeta. Kako bi zadovoljila rastuću potražnju za sirovinom, PLIVA započinje graditi novi po-

gon za proizvodnju azitromicina u Savskom Marofu, koji je završen 1998. godine. U tom se pogonu azitromicin proizvodi i danas.

Ime *Sumamed*, kao izvedenicu od “suma medicine” dao je dr. sc. S. Đokić, unaprijed predviđajući njegovu blistavu budućnost.

Kristalna struktura i polimorfija

Azitromicin je u sirovini za proizvodnju gotovog oblika (npr. *Sumameda*) dolazio kao bijeli kristalični prah u formi azitromicina dihidrata. To znači da u kristalnoj strukturi ovog oblika na jednu molekulu azitromicina dolaze i dvije molekule vode. Naravno, otapanjem u tijelu, djelatna tvar je opet samo azitromicin te kristalni oblik nije važan za aktivnost azitromicina.

Azitromicin dobiven prema patentnom postupku iz 1981. godine izoliran je u amorfnom obliku. Tek će se kasnije, razradom patentnih postupaka i promjenom načina izolacije, tj. zamjenom ekstraktivnih postupaka taloženjem i prekrizacijom, pojaviti i drugi oblici.

Treba imati na umu činjenicu da su se gore opisana istraživanja odvijala u drugoj polovici sedamdesetih i prvoj polovici osamdesetih godina dvadesetoga stoljeća kada su metode strukturne analize bile slabo dostupne u Hrvatskoj te da je to doba kada se o polimorfiji, koja se danas često primjenjuje u farmaceutskoj industriji, nije uopće razmišljalo s aspekta patentne zaštite.

No već u studenome 1984. godine PLIVINI su istraživači shvatili da se taložnom metodom izolacije dobiva azitromicin s 5 %-tnim sadržajem vode, što bi odgovaralo prisutnosti dviju molekula vode po molekuli azitromicina. Ta je pretpostavka potvrđena termogravimetrijskom analizom, a zatim jednoznačno i rendgenskom strukturnom analizom monokristalnog uzorka azitromicina dihidrata, dobivena taloženjem sirovoga produkta iz smjese aceton/voda i rekristalizacijom iz etera, napravljenom na Zavodu za opću i anorgansku kemiju Kemijskoga odsjeka Prirodoslovno-ma-

T a b l i c a 1 – Usporedni pregled relevantnih PLIVINIHI i Pfizerovih patentnih prijava te PLIVINIHI znanstvenih radova

T a b l e 1 – Comparative overview of PLIVA's and Pfizer's relevant patent applications, and PLIVA's publications

PATENTI – PLIVA i PFIZER**PATENTS – PLIVA and PFIZER**

Opis Description	Vlasnik Proprietor	Zemlja (oznaka) Country (Designation)	Datum prijave Application submitted	Datum priznanja Patent granted	Izumitelji Inventors
Beckmannova pregradnja ³⁴ (prekursori azitromicina)	PLIVA	Jugoslavija – Yugoslavia (YU 43116)	2. 4. 1979. (prioritet/priority)	30. 4. 1989.	G. Kobrehel, G. Radobolja, Z. Tamburašev, S. Đokić
Beckmann rearrangement ³⁴ (azithromycin precursors)		SAD – USA (US 4,328,334)	28. 3. 1980.	4. 5. 1982.	
azitromicin ³⁹ azithromycin ³⁹	PLIVA	Jugoslavija – Yugoslavia (YU 43006)	6. 3. 1981. (prioritet/priority)	28. 2. 1989.	G. Kobrehel, S. Đokić
		Belgija – Belgium (BE 892.357)	4. 3. 1982.	1. 7. 1982.	
		SAD – USA (US 4,517,359)	22. 9. 1981.	14. 5. 1985.	
azitromicin ⁵⁸ azithromycin ⁵⁸	Pfizer	SAD – USA (US 4,474,768)	19. 7. 1982. (prioritet/priority); 15. 11. 1982.	2. 10. 1984.	G. M. Bright
N-alkilirani derivati azitromicina ⁵⁹ azithromycin N-alkyl derivatives ⁵⁹	Pfizer	SAD – USA (US 4,464,527)	30. 6. 1983. (prioritet/priority)	7. 8. 1984.	G. M. Bright
azitromicin dihidrat ⁶⁹ azithromycin dihydrate ⁶⁹	Pfizer	međunarodna – international PCT/US87/1612 / WO 1989/000576	9. 7. 1987. (prioritet/priority); 26. 1. 1989.	26. 1. 1989. (objava/publication)	D. J. M. Allen, K. M. Nepveux
		SAD – USA (US 6,268,489)	9. 7. 1987. (prioritet/ priority); 21. 12. 1992.	31. 7. 2001.	

PLIVINE PUBLIKACIJE**PLIVA's PUBLICATIONS**

Opis Description	Časopis / konferencija Journal / Conference	Datum primitka Submission date	Datum publiciranja Publication date	Autori Authors
Beckmannova pregradnja Beckmann rearrangement	J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1 (1986) 1881–1890 ³⁵	16. 10. 1985.	1986.	S. Đokić, G. Kobrehel, G. Lazarevski, N. Lopotar, Z. Tamburašev, B. Kamenar, A. Nagl, I. Vicković
	J. Antibiot. 40 (7) (1987) 1006–1015 ³⁶	6. 1. 1987.	7. / 1987.	S. Đokić, G. Kobrehel, G. Lazarevski
azitromicin i azitromicin dihidrat azithromycin and azithromycin dihydrate	X. sastanak kemičara Hrvatske ⁶² X. Meeting of Croatian Chemists ⁶²	16. – 18. 2. 1987.		
	J. Chem. Res. (S) (1988) 152–153; J. Chem. Res. (M) (1988) 1237–1261 ⁴⁰	4. 6. 1987.	1988.	S. Đokić, G. Kobrehel, N. Lopotar, B. Kamenar, A. Nagl, D. Mrvoš

tematičkoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom akademika prof. dr. sc. B. Kamenara. Rezultati kristalografskih istraživanja prezentirani su na *X. sastanku kemičara Hrvatske*,⁶² koji se od 16. do 18. veljače 1987. održao u Zagrebu, na sastanku Sekcije za nastavu kemije u veljači 1988.⁶³ te u radu predloženom za publiciranje 4. 6. 1987. i objavljenom 1988. u časopisu *Journal of Chemical Research*.⁴⁰

Tako je tijekom osamdesetih godina prošlog stoljeća rendgenskom strukturnom analizom jednoznačno određeno nekoliko struktura 15-eročanih azalida sintetiziranih u PLIVI – iminoetera i amin-hidrojudida eritromicina A³⁵ te azitromicina dihidrata.⁴⁰ Početkom 1990-ih određene su i kristalne strukture metil-⁶⁴ i etil-eritronolida⁶⁵ te *N*-(*N'*-izopropilkarbamoi)-derivata azitromicina,⁵² a kasnije i drugih azitromicinskih derivata. Ubrzo su uslijedile i prve konformacijske analize derivata azitromicina u čvrstom stanju⁶⁶ i otopini.^{67,68}

Patent za azitromicin dihidrat

Tijekom jednog od zajedničkih sastanaka i razmjene informacija s Pfizerom u proljeće 1987. Pfizer je PLIVU obavijestio da je dobio stabilniju nehigroskopsku formu azitromicina, koju je karakterizirao kao dihidrat. PLIVA je tada Pfizer obavijestila da i ona ima dihidrat te ga je upoznala s rezultatima rendgenske strukturne analize i činjenicom da je kristalna struktura azitromicina dihidrata prezentirana na *X. sastanku kemičara Hrvatske*⁶² te Pfizeru uručila radnu verziju publikacije⁴⁰ u kojoj se, između ostalog, govori o kristalnoj strukturi dihidrata. No usprkos ovoj razmjeni informacija, uslijedilo je neugodno iznenađenje. Pfizer, ne obavještavajući PLIVU, 9. 7. 1987. predaje međunarodnu prijavu PCT za azitromicin dihidrat,⁶⁹ koja inicijalno obuhvaća šest zemalja: SAD, Sovjetski Savez, Finsku, Mađarsku, Norvešku i Rumunjsku. U ovoj patentnoj prijavi Pfizer zaštićuje azitromicin dihidrat, postupak za njegovo dobivanje i izolaciju kristalizacijom iz smjese tetrahidrofuran/heksan. PLIVA je za Pfizerovu patentnu prijavu saznala slučajno. Pfizer se poslije ispričao za svoj postupak, a PLIVINA je poslovna odluka bila da ne ulazi u sudski spor, što se pokazalo ispravnim. PLIVA tada laboratorijske dnevnike nije vodila na način koji bi mogao poslužiti kao vjerodostojan *first-to-invent* dokaz u parnici pobijanja patenta jer zapisi nisu verificirani pa je upitno, u slučaju da se odlučilo ući u spor, bi li PLIVINI dokazi bili prihvaćeni. Treba istaknuti da su PLIVINI djelatnici u okviru zajedničke suradnje s Pfizerom razvijali vlastitu metodu kristalizacije azitromicina dihidrata iz ekološki znatno prihvatljivije smjese otapala aceton/voda što je patentirano 1991. godine.⁷⁰ Ovaj je postupak primijenjen u komercijalnoj proizvodnji azitromicina.

U razgovorima koji su uslijedili Pfizer je PLIVI dao besplatnu licenciju patenta za azitromicin dihidrat⁶⁹ na PLIVINU teritoriju. Pfizerov patent za azitromicin dihidrat,⁶⁹ za vrijeme trajanja PLIVINIH patenata (za Beckmannovu pregradnju³⁴ i azitromicin³⁹), nije imao utjecaja na prava definirana ugovorima između PLIVE i Pfizer. No nakon isteka PLIVINIH patenata, Pfizer je, na temelju patenta za dihidrat, koji na tržištu SAD-a s produljenjem vrijedi do 2018. godine (31. 7. 2018.), i dalje ekskluzivni proizvođač azitromicin dihidrata (*brand Zithromax*) za tržište SAD-a, a za to PLIVI više ne tre-

ba plaćati tantijeme. Na nekim drugim tržištima i ovaj je Pfizerov patent istekao. Druge tvrtke azitromicin, kao djelatnu tvar, na tržište u SAD-u i drugim zemljama gdje je još na snazi Pfizerov patent za azitromicin dihidrat, mogu stavljati u drugim oblicima jer su patenti za azitromicin, kao djelatnu tvar, u međuvremenu prestali važiti.

Polimorfija i solvati azitromicina detaljno su u PLIVI istraživani kasnije, na prijelazu iz 20. u 21. stoljeće.^{71,72} Danas su poznate različiti oblici azitromicina. PLIVA danas na tržištu SAD-a prodaje azitromicin u obliku monohidrata, a u Hrvatskoj ga i dalje prodaje kao dihidrat.

Priznanja i nagrade

Značaj azitromicina kroz priznanja i nagrade prepoznale su, naravno, PLIVA i Hrvatska, ali i svijet. U Washingtonu D.C., u SAD-u, 20. 8. 2000., Američko kemijsko društvo (engl. *American Chemical Society*, ACS) dr. sc. Slobodanu Đokiću i mr. sc. Gabrijeli Kobrehel, zajedno s kolegama koji su sudjelovali u radu na azitromicinu iz Pfizer, dodijelilo je priznanje za unapređenje globalne dobrobiti čovječanstva u području zdravlja i imenovalo ih "Herojima kemije" na ceremoniji pod imenom "Heroji kemije 2000." (engl. "*Heroes of Chemistry 2000*").⁷³ Vrijedi istaknuti da je ACS, neprofitna organizacija američkih kemičara i kemijskih inženjera, najveća udruga znanstvenika na svijetu. Nagrada "Heroji kemije" dodjeljuje se od 1996. godine s namjerom isticanja važnosti rada kemičara znanstvenika i inženjera koji rade u industriji, čije su inovacije rezultirale komercijalno uspješnim proizvodima za njihove tvrtke, no istodobno služile na dobrobit društvu. Ovo međunarodno priznanje ujedno je priznanje svima koji su sudjelovali u radu na azitromicinu i stavljanju gotovog lijeka na tržište.

Nabrojimo samo još neka priznanja vezana izravno uz azitromicin mada bi se mnoga priznanja dodijeljena PLIVI za njezino poslovanje (npr. Kristalna kuna HGK 2001., Zlatna dionica 1999. i 2003., Najbolja hrvatska dionica desetljeća 2007.), za vrijeme trajanja patentne zaštite za azitromicin, također mogla smatrati priznanjima vezanim uz azitromicin:

- Izložba izuma i tehničkih unapređenja INOVA, 1975., zlatna medalja, nagrađena: mr. sc. G. Kobrehel;
- Nagrada PLIVE za 1986. godinu, nagrađeni: mr. sc. G. Kobrehel, dr. sc. G. Lazarevski i mr. sc. N. Lopotar;
- Izložba izuma i tehničkih unapređenja INOVA, 1988., zlatna medalja, nagrađena: mr. sc. G. Kobrehel;
- Izložba izuma i tehničkih unapređenja RAST, 1988., zlatna medalja, nagrađena: mr. sc. G. Kobrehel;
- Jubilarna nagrada PLIVE za 1996., povodom proslave 75. obljetnice osnivanja PLIVE, zlatnik, nagrađeni: dr. sc. S. Đokić, mr. sc. G. Kobrehel, dr. sc. G. Lazarevski i dr. sc. Z. Tamburašev;
- Zlatna kuna HGK, Nagrada za životno djelo, 1998., pojedinačno nagrađeni: dr. sc. S. Đokić, mr. sc. G. Kobrehel, dr. sc. G. Lazarevski i dr. sc. Z. Tamburašev;
- Nagrada HAZU-a za otkriće novog antibiotika azitromicina, 1998., nagrađeni: dr. sc. S. Đokić, mr. sc. G. Kobrehel, dr. sc. G. Lazarevski i dr. sc. Z. Tamburašev;

– Nagrada grada Zagreba, 2007., nagrađeni: mr. sc. G. Kobrehel i dr. sc. G. Lazarevski.

Hrvatski Državni zavod za intelektualno vlasništvo uvrstio je dr. sc. S. Đokića, mr. sc. G. Kobrehel, dr. sc. G. Lazarevski i dr. sc. Z. Tamburašev u svoje izdanje "Hrvatski izumitelji kroz povijest"¹⁹ uz bok Ruđeru Boškoviću, Nikoli Tesli i drugim poznatim hrvatskim izumiteljima.

Timski rad

U ovom pregledu težište je ponajprije stavljeno na izum azitromicina kao supstancije, na sintetsku kemiju koja je dovela do njegovog nastanka te na patente i radove koji su rezultate tih istraživanja prezentirali domaćoj, ali u prvom redu ipak svjetskoj javnosti. No put od laboratorija do lijeka na tržištu, od azitromicina do *Sumamed*, bio je dug. U današnje vrijeme on obično traje deset do dvadeset godina, a troškovi dosižu stotine milijuna pa čak i milijardu i više dolara. Kako su zahtjevi kliničkih istraživanja i registracije lijekova prije trideset godina bili manji, azitromicin je od spoja u laboratoriju do *Sumamed* na policama ljekarni uspio doći za desetak godina. Na tom dugom putu na azitromicinu su radili mnogi stručnjaci, u PLIVI i izvan nje, koji su pomogli u identifikaciji spoja, strukturnoj karakterizaciji, ispitivanju antibakterijske aktivnosti, u istraživanju toksičnosti, farmakokinetike i farmakodinamike, pretkliničkim i kliničkim ispitivanjima. Trebalo je razraditi formulaciju. Sintezu je trebalo prvo optimizirati, prenijeti je iz laboratorijskih uvjeta u pilot-postrojenje, a zatim i u pogon za uobičajenu proizvodnju. Analitičke je metode trebalo prenijeti u kontrolu kvalitete. Svu dokumentaciju koja je pratila spomenute korake trebalo je uobličiti u DMF (engl. *Drug Master File*) za sirovinu i registracijski *dossier* za gotov proizvod. Ne treba zaboraviti niti PLIVINE patentne i pravne stručnjake koji su radili na ugovorima. Tu su i mnoge tehničarke, i pokoji tehničar, koje su ideje svojih inženjerki i inženjera svakodnevno provodili u praksu. Nemoguće je spomenuti sve koji su u ovom velikom poslu sudjelovali, a da se nekoga nenamjerno ne ispusti. Stoga ćemo spomenuti samo još neke institucije koje su pomogle u identifikaciji sintetiziranih spojeva: maseni spektri snimali su se na Institutu Jožef Stefan, u Ljubljani, u Sloveniji, a NMR na Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu. Zavod za opću i anorgansku kemiju Kemijskoga odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu radio je na određivanju strukture azitromicina, ali i njegovih prekursora i drugih derivata, dok je antibakterijska aktivnost preliminarno ispitivana i u Kliničkoj bolnici Sveti Duh u Zagrebu.

Osvrt umjesto zaključka

Ovaj je rad zamišljen, pa i napisan, kao pregledni rad u čast tridesete godišnjice patentne prijave za izum azitromicina (1981. – 2011.) i šezdesete godišnjice izlazenja časopisa *Kemija u industriji* (1951. – 2011.). Mogao je biti napisan i u čast devedesete godišnjice osnutka PLIVE (1921. – 2011.). No, radeći na njemu, čitajući podatke iz toga vremena, u prvom redu Povjesnicu PLIVE¹⁴ i PLIVINU Bibliografiju znanstvenih i stručnih radova¹² za razdoblje 1921. – 1991., postalo mi je jasno da, osim kemijsko-patentno-povijesne vizure opisane u ovom radu, priča o azitromicinu ima i dru-

gu snažnu, vrlo aktualnu komponentu te da bi se o istoj temi mogao napisati i rad pod sasvim drugačijim naslovom u kojem bi azitromicin, ali i PLIVIN Istraživački institut, bili promatrani iz potpuno drugačije perspektive, iz koje se također može mnogo naučiti. Stoga ću se, umjesto zaključka, ukratko osvrnuti na ovu drugu dimenziju azitromicina. Pri tome nemam niti najmanju namjeru nepotrebno ili nezasluženo veličati PLIVU ili njezin Istraživački institut.

Može se čuti, a navod iz Wikipedije¹¹ govori tome u prilog, kako se o azitromicinu govori kao o sreći, a ne kao rezultatu kontinuiranog i predanog rada. No otkriće azitromicina nikako nije bilo sreća. Bio je to rezultat strategije razvoja PLIVE dobro osmišljene još 50-ih godina prošlog stoljeća koja je već tada, u socijalizmu, shvatila da se razvoj ne može temeljiti samo na uvozu već na proizvodnji temeljenoj na vlastitom istraživanju i razvoju¹⁴ i na kontinuiranoj suradnji stručnjaka raznih struka iz industrije i akademske zajednice – na timskom radu i transferu znanja i tehnologije iz istraživanja do proizvodnje, i na kraju, tržišta. Zvuči li poznato? Vjerojatno to niste pročitali u Povjesnici PLIVE¹⁴ izdanoj prije dvadeset godina, već su Vam ovi pojmovi poznati iz *Lisabonske strategije* (2000. – 2010.), nove strategije *Europa 2020.*, nekog drugog suvremenog dokumenta koji govori o strategiji razvoja Europske unije ili pak iz nekih hrvatskih strateških nacionalnih dokumenata koji se temelje na dokumentima Europske unije, a nažalost su slabo znani u hrvatskoj praksi. No vratimo se PLIVI – da bi se realizirala osmišljena strategija, trebalo je okupiti vrhunske stručnjake, ali i mlade, ambiciozne ljude, stalno ulagati u daljnje obrazovanje, pratiti svjetske trendove, osigurati mjesto, vrijeme i stimulativne uvjete da se predanim radom ideje pokušaju pretočiti u nove proizvode. Interesantno je da je PLIVA već prije četrdesetak godina prepoznala važnost transfera znanja i tehnologije za postizanje tržišne kompetitivnosti. Dr. sc. S. Đokić još je sedamdesetih godina prošlog stoljeća na konferencijama u nekoliko navrata govorio o transferu tehnologije,^{74–77} danas opet vrlo aktualnoj društveno-gospodarskoj temi, koristeći se upravo tom terminologijom. Već je tada PLIVA shvatila važnost razvoja, ne samo znanstveno-istraživačke ekspertize, već i ekspertize u području zaštite (u ovom konkretnom slučaju patentne zaštite) i komercijalizacije intelektualnog vlasništva. Danas, trideset godina poslije, još su uvijek rijetki fakulteti koji takav kolegij imaju u svojim kurikulumima ili znanstvene institucije koje se trude svoje zaposlenike sustavno obrazovati u tom području. Stoga bi se na temu azitromicina mogao napisati i rad ili *case study* pod naslovom "Azitromicin – prvi i najveći hrvatski primjer uspješnog transfera znanja i tehnologije – zaštite i komercijalizacije intelektualnog vlasništva".

Danas u Hrvatskoj više ne postoji tvrtka PLIVINA kalibra iz druge polovice 20. stoljeća (u smislu vizije, strategije, realizacije), no svi oni koji danas kreiraju znanstvenu ili razvojnu politiku mogli bi mnogo naučiti na primjeru PLIVE i njezina Istraživačkog instituta u drugoj polovici 20. stoljeća. Nažalost, niti sama PLIVA nije uvijek znala učiti iz svojih uspjeha, ali niti iz svojih pogrešaka. Čudno je, ili zapravo nije, da u nekoliko navrata, kada je PLIVA tijekom proteklih šest godina nemilice otpuštala svoje stručnjake, i one iz Istraživačkog instituta, nitko nije bio zainteresiran za njih. Mobilnost između industrije i javnih obrazovnih, znanstvenih i drugih ustanova u Hrvatskoj danas je vrlo slaba. Drugačija znanja i iskustva, drugačiji načini razmišljanja, drugačije perspektive

i kulture nisu poželjni na hrvatskom tržištu. Da postoji više volje za učenjem od drugih, možda bi se dogodili i drugi "sumamedi" bez sreće ili sa srećom, koja nam je uvijek potrebna i poželjna, ali samo kao komponenta uspjeha. PLIVIN Istraživački institut, koji je počeo nestajati u trenutku kada je proslavio pedesetu godišnjicu svoga osnutka (1952. – 2002.) i šezdeset i šestu godišnjicu istraživačkog rada (1936. – 2002.), te preselio u novu, velebnu zgradu, uvijek je bio otvoren za različite načine razmišljanja i bio je uspješan bez obzira na državu, društveno uređenje i gospodarske prilike koje su ga okruživale. Nije Istraživački institut bio neko idealno mjesto, imao je on, kao i svaka druga organizacija, svoje dobre i loše strane, no zahvaljujući **svim** svojim zaposlenicima, njihovu znanju i entuzijazmu, timskom radu i kulturi koja je omogućavala otvorenu komunikaciju, razmjenu znanja i ideja, uvijek je bio ispred regionalnog vremena, sinhroniziran sa svjetskim. To mu je i omogućilo uspjeh, ali je, na neki način, bilo i kobno.

Svjetska organizacija za intelektualno vlasništvo (*World Intellectual Property Organization*, WIPO) na svojim internetskim stranicama navodi PLIVU, uz neka sveučilišta u SAD-u, kao primjer⁷⁸ proaktivne strategije licenciranja koja je omogućila maksimalnu prisutnost na tržištu novostvorenog proizvoda i zaradu, ne samo od vlastite prodaje već i od tantijema. WIPO donosi i cijelu priču o azitromicinu pod naslovom "Aзитromicin: najprodavaniji svjetski antibiotik – PLIVA" (engl. "*Azithromycin: A world best-selling antibiotic – PLIVA*")² prikazujući kako relativno mala farmaceutska tvrtka, s malim ulaganjima u istraživanje i razvoj u svjetskim mjerilima, može profitirati od sustavnog pristupa zaštiti intelektualnog vlasništva potpomognutog odgovarajućom poslovnom politikom.

Azitromicin je, nesumnjivo, najveći PLIVIN uspjeh, znanstveni i komercijalni, ali i veliko dostignuće u hrvatskoj znanstvenoj povijesti, s aspekta komercijalizacije znanstvenih istraživanja do sada sigurno jedno od najvećih. On je ujedno i velik doprinos znanosti, medicini i poboljšanju kvalitete života na globalnoj razini. Azitromicin je PLIVU svrstao u red malobrojnih farmaceutskih kuća u svijetu koje su otkrile novi *blockbuster*, a Hrvatsku među nekoliko zemalja na svijetu koje imaju svoj antibiotik.

Bilo bi dobro kada bismo poduzeli sve, ne samo na papiru nego i u praksi, kako bi se azitromicinu što skorije pridružili neki drugi slični uspjesi, iz drugih organizacija ili partnerskih timova, i kada bi WIPO na svojim web stranicama, uz priču o PLIVI, donio i neki drugi *case study* iz Hrvatske, pa da se i praktično, a ne samo teoretski, (opet) približimo ekonomiji i društvu znanja.

ZAHVALA

Neprocjenjiv doprinos ovom radu, a posebice njegovu kemijskom dijelu, dale su izumiteljice azitromicina – mr. sc. Gabrijele Kobrehel i dr. sc. Gorjana Lazarevski – koautorice velikog broja patenata i radova u području azalidne kemije, što ih svrstava u vrhunske svjetske stručnjakinje u tom području, koje zbog svoje skromnosti nisu željele biti deklarirane kao koautorice. Pisanje rada, trideset godina nakon izuma azitromicina, ne bi bilo moguće bez pedantnosti i organiziranosti mr. sc. G. Kobrehel, koja je, od svih izumitelja, najizdržljivije bila prisutna tijekom svih faza istraživanja vezanih uz azitromicin, te nenadmašna pamćenja (koje uključuje i brojeve

patenata) dr. sc. Gorjana Lazarevski, koja je svoje ogromno znanje, ne samo sintetske kemije već i NMR-a i patenata, sve do nedavno nesebično prenosila mladim istraživačima Istraživačkoga instituta. Autorica rada od srca zahvaljuje objema izumiteljicama na lijepim danima provedenim u Laboratoriju za kemijske transformacije makrolidnih antibiotika početkom 1990-ih koji su je, barem djelomično, kvalificirali za pisanje ovog rada te na sjećanjima, savjetima i korekcijama koji su postali njegovim sastavnim dijelom.

Tumač osnovnih pojmova

makrolidi – spojevi koje karakterizira makrolaktonski prsten (npr. 12-, 14-, 15-, 16-, 17- ili 18-eročlani) i glikozidno vezani šećeri

eritromicin A – makrolidni antibiotik s 14-eročlanim prstenom (**2**, slika 1)

azalidi – potklasa makrolida koju karakterizira makrolidni prsten s dušikom u prstenu

azitromicin – makrolidni antibiotik s 15-eročlanim prstenom i metiliranim dušikom te glikozidno vezanim šećerima – kladinom i desozaminom na položajima 3 i 5 makrocikla; prvi predstavnik klase azalida; otkriven u PLIVI (**1**, slika 1)

unakrsna rezistencija (engl. *cross-resistance*) – pojava otpornosti na djelatnu supstanciju kao posljedica izloženosti bakterije supstanciji sličnog djelovanja tj. posljedična pojava rezistentnosti i na druge ili na sve lijekove iz iste klase

azitromicin dihidrat – jedan od kristalnih oblika (vs. amorfni oblik) azitromicina u čijoj kristalnoj strukturi na jednu molekulu azitromicina dolaze dvije molekule vode

polimorfi i pseudopolimorfi – različiti oblici (kristalni ili amorfni) jednog spoja i njegovih solvata (npr. azitromicin monohidrat, azitromicin dihidrat); s patentnog je aspekta važno da se različiti polimorfi istoga spoja mogu zasebno patentno zaštititi

Sumamed – od PLIVE zaštićeno tržišno ime (engl. *brand name*) pod kojim se azitromicin prodaje na hrvatskom i na nekim drugim tržištima

Zithromax – od Pfizera zaštićeno tržišno ime pod kojim se azitromicin prodaje na američkom i na većini drugih svjetskih tržišta

PLIVA³ – prva farmaceutska tvrtka u ovom dijelu Europe osnovana 1921. godine u Karlovcu pod imenom Kaštel; nekadašnja najveća jugoslavenska farmaceutska tvrtka, a zatim hrvatska koja izlaskom na zagrebačku i londonsku burzu postaje međunarodna; tijekom 1990-ih godina najveća farmaceutska tvrtka u srednjoj i istočnoj Europi; 2005. godine kupuje ju američka kompanija Barr; 2008. godine Teva kupuje Barr, a time i PLIVU, pa danas PLIVA, kao isključivo generička kompanija (bez vlastita istraživanja novih lijekova), posluje u sklopu Teve, globalne farmaceutske kompanije sa središtem u Izraelu; Tevino generičko poslovanje najveće je na svijetu

Pfizer⁴ – najveća svjetska farmaceutska tvrtka, čije se poslovanje temelji na istraživanju novih kemijskih entiteta (tzv. izvorni lijekovi)

izvorni lijek (engl. *proprietary drug*) – posve nov lijek nastao na temelju istraživanja novih kemijskih entiteta čiji rezultati se patentno zaštićuju; prolazi dugotrajna klinička ispitivanja; za vrijeme trajanja patente zaštitite (obično 20 godina) samo vlasnik patenta može proizvoditi lijek ili može to pravo licencirati nekom drugom uz odgovarajuću naknadu

generički lijek (engl. *generic drug*) – kopija lijeka koja je identična izvornom lijeku s obzirom na dozu, sigurnost i način uporabe, mehanizam i jačinu djelovanja te kvalitetu i namjenu; može doći na tržište tek nakon što istekne patentna zaštita izvornog lijeka

patent – isprava kojom se na određeno vrijeme zaštićuje isključivo pravo iskorištavanja nekog izuma u zamjenu za njegovu javnu objavu; patent vrijedi samo na području za koje je izdan (država); patent predstavlja vlasništvo čiju uporabu vlasnik može dopustiti drugim osobama na određeno vrijeme davanjem licencije ili ga u potpunosti prenijeti na druge osobe

PCT (engl. *Patent Cooperation Treaty*) – sporazum koji omogućuje da se u roku od dvanaest mjeseci od datuma podnošenja prve prijave izuma podnese međunarodna patentna prijava (tzv. prijava PCT) kojom se istodobno započinje postupak zaštite izuma patentom u većem broju odabranih država

first-to-invent – u doslovnom prijevodu: onaj koji je prvi izumio – princip američkog patentnog prava kojim se patent dodjeljuje onom tko može dokazati da je prvi došao do izuma, neovisno o tome tko je prvi predao prijavu izuma

first-to-file – u doslovnom prijevodu: onaj koji je prvi predao prijavu – princip europskog patentnog prava kojim se patent dodjeljuje onom tko prvi preda prijavu izuma, neovisno o tome tko je prvi došao do izuma

state-of-the-art – trenutačno stanje tehnike; u smislu patentnog ispitivanja: sve što je postalo pristupačno javnosti u svijetu, pisanim ili usmenim putem, uporabom ili na bilo koji drugi način prije datuma podnošenja prijave izuma

licencija – dopuštenje za upotrebu nečega koje daje vlasnik; u ovom radu: ugovor kojim vlasnik patenta dopušta drugoj ugovornoj strani primjenu patenta uz određene uvjete

tantijema (engl. *royalty*) – postotak od zarade na prodaji gotovog proizvoda koji onaj koji je kupio licenciju isplaćuje onome tko mu je licenciju prodao

Literatura* References

1. Google, URL: <http://www.google.hr/> (15.8.2011.).
2. A world best-selling antibiotic – PLIVA, World Intellectual Property Organization, URL: http://www.wipo.int/sme/en/case_studies/pliva.htm (15. 8. 2011.).
3. PLIVA, URL: <http://www.pliva.hr/>.
4. Pfizer, URL: <http://www.pfizer.com/home/>.
5. Agencija za lijekove i medicinske proizvode, Zagreb, URL: http://www.almp.hr/?ln=hr&w=lijekovi_popis_lijekova (23. 8. 2011.).
6. Orange Book, URL: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/ob/docs/tempai.cfm> (15. 8. 2011.).
7. Izvorno hrvatsko, URL: <http://www2.hgk.hr/znakovi/izvorno/izvorno.asp> (15. 8. 2011.).
8. Sumamed, Uputa o lijeku, Agencija za lijekove i medicinske proizvode, Zagreb: kapsule URL: <http://www.almp.hr/upl/lijekovi/PIL/UP-I-530-09-05-02-258.pdf>; tablete, URL: <http://www.almp.hr/upl/lijekovi/PIL/UP-I-530-09-09-02-560.pdf>; sirup, URL: <http://www.almp.hr/upl/lijekovi/PIL/UP-I-530-09-05-02-255.pdf> (30. 9. 2011.).
9. A. E. Yonath, The amazing ribosome, its tiny enemies and hints about its origin, XXII. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, 13.–16. 2. 2011., Zagreb, Knjiga sažetaka, sažetak PL, str. 3.
10. G. M. Bright, A. A. Nagel, J. Bordner, K. A. Desai, J. N. Dibrino, J. Nowakowska, L. Vincent, R. M. Watrous, F. C. Scivolino, A. R. English, J. A. Retsema, M. R. Anderson, L. A. Brennan, R. J.

Borovoy, C. R. Cimochoowski, J. A. Faiella, A. E. Girard, D. Girard, C. Herbert, M. Manousos, R. Mason, *Synthesis in vitro and in vivo activity of novel 9-deoxy-9a-aza-9a-homoerythromycin A derivatives*; A new class of macrolide antibiotics, the azalides, *J. Antibiot.* **41** (1988) 1029–1047.

11. Azitromicin u Wikipediji, URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/Azithromycin> (15. 8. 2011.).
12. Bibliografija znanstvenih i stručnih radova – PLIVA 1921.–1991., K. Kovačević (ur.), PLIVA, Zagreb, 1991.
13. PLIVA '70, 1921.–1991., A. Čapeta (ur.), PLIVA, Zagreb, 1991.
14. Povjesnica PLIVE, A. Čapeta (ur.), PLIVA, Zagreb, 1996.
15. S. Đokić, Z. Tamburašev (PLIVA), Erythromycin oxime and 9-amino-3-O-cladinol-5-O-desosaminyl-6,11,12-trihydroxy-2,4,6,8,10,12-hexamethyl-pentadecane-olide, SAD pat. prijava (prioritet) US 1967/0660895 (16. 8. 1967.); patent US 3,478,014 (11. 11. 1969.).
16. S. Đokić, Z. Tamburašev (PLIVA), Postupak za dobivanje 9-amino-3-O-cladinol-5-O-desosaminil-6,11,12-trihidroksi-2,4,6,8,10,12-heksametilpentadekan-13-olida (9-amino-eritromicina), jug. pat. prijava P-1046/64 (27. 7. 1964.); njem. pat. prijava (prioritet) DE 1967/P042498 (29. 6. 1967.); patent DE 1593961 B1 (12. 8. 1971.).
17. Z. Tamburašev, Studije u redu eritromicina, doktorska disertacija, Tehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 1965.
18. S. Đokić, Z. Tamburašev, Erythromycin study: 9-amino-3-O-cladinol-5-O-desosaminyl-6,11,12-trihydroxy-2,4,6,8,10,12-hexamethylpentadecane-13-olide, *Tetrahedron Lett.* **17** (1967) 1645.
19. T. Milović, S. Blažeković, Lj. Golubić Bregant, Hrvatski izumitelji kroz povijest / Croatian Inventors through History, Državni zavod za intelektualno vlasništvo, Zagreb, 2006.
20. Z. Tamburašev, G. Vazdar, S. Đokić (PLIVA), Postupak za pripremu acil derivata eritromicin oksima, jug. pat. prijava (prioritet) P-1540/67 (3. 8. 1967.); patent YU 31319 B (30. 4. 1973.); patent US 3,574,185 (6. 4. 1971.).
21. Z. Tamburašev, G. Vazdar, S. Đokić (PLIVA), Postupak za pripremu acil derivata 9-amino-3-O-cladinol-5-O-desosaminil-6,11,12-trihidroksi-2,4,6,8,10,12-heksametilpentadekan-13-olida (eritromicilamina), jug. pat. prijava (prioritet) P-1541/67 (3. 8. 1967.); patent YU 31320 B (30. 4. 1973.); patent US 3,538,076 (3. 11. 1970.).
22. G. Kobrehel, Z. Tamburašev, S. Đokić (PLIVA), Postupak za pripremu derivata N-(benzensulfonil)-eritromicilamina, jug. pat. prijava (prioritet) P-151/73 (19. 1. 1973.); patent YU 35369 B (31. 12. 1980.); patent DE 2402200 C2 (11. 3. 1982.).
23. G. Radobolja, Z. Tamburašev, S. Đokić (PLIVA), Postupak za dobivanje derivata N-(benzensulfonil)-5-O-desosaminil-eritromicilamina, jug. pat. prijava (prioritet) P-97/74, (14. 1. 1974.); patent YU 35363 B (31. 12. 1980.); patent US 3,939,144 (17. 2. 1976.).
24. Z. Tamburašev, G. Vazdar, S. Đokić, Erythromycin series II: Acylation of erythromycin oxime and 9-amino-3-O-cladinol-5-O-desosaminyl-6,11,12-trihydroxy-2,4,6,8,10,12-hexamethylpentadecane-13-olide with ester chlorides of dicarboxylic acids, *Croat. Chem. Acta* **39** (1967) 245.
25. Z. Tamburašev, S. Đokić, Erythromycin series III: Acylation of erythromycin oxime and 9-amino-3-O-cladinol-5-O-desosaminyl-6,11,12-trihydroxy-2,3,5,8,10,12-hexamethylpentadecane-13-olide with chlorides of some aliphatic monocarboxylic acids, *Croat. Chem. Acta* **40** (1968) 93.
26. G. Kobrehel, Z. Tamburašev, S. Đokić, Erythromycin series IV: Thin-layer chromatography of erythromycin, erythromycin oxime, erythromycylamine and their acyl derivatives, *J. Chromatogr.* **133** (1977) 415.

* Patenti su citirani na način da je navedena prijava izuma relevantna za prioritet te priznati patentni za jednu ili više zemalja; nisu navedene prijave u svim odabranim zemljama niti svi priznati patentni.

27. T. Lazarevski, Z. Tamburašev, S. Đokić, Erythromycin series V: Quantitative analysis of cladinose and methyl cladinose by densitometry of thin-layer chromatograms, *J. Chromatogr.* **132** (1977) 309.
28. T. Lazarevski, G. Radobolja, S. Đokić, Erythromycin VI: Kinetics of acid-catalyzed hydrolysis of erythromycin oxime and erythromycylamine, *J. Pharm. Sci.* **67** (1978) 1031.
29. G. Kobrehel, Z. Tamburašev, S. Đokić, Erythromycin series VIII: Synthesis and biological activity of *N*-(substituted-benzensulfonyl)erythromycilamines, *Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther.* **13** (1978) 83.
30. D. Tomljanović, V. Gomerčić, G. Kobrehel, Z. Tamburašev, Toxicological examination of some new erythromycine derivatives in SPF mice, *Iugosl. Physiol. Pharmacol. Acta* **14** (1978) 270.
31. T. Lazarevski, Kiselo katalizirana hidroliza eritromicinoksima i eritromicilamina, magistarski rad, Tehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 1974.
32. G. Kobrehel, Sinteza *N*-(supstituiranih-benzensulfonil)-eritromicilamina i neka njihova biološka svojstva, magistarski rad, Tehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 1977.
33. G. Radobolja, Hidroliza *N*-(supstituiranih-benzensulfonil)eritromicilamina, magistarski rad, Tehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 1977.
34. G. Kobrehel, G. Radobolja, Z. Tamburašev, S. Đokić (PLIVA), Postupak za pripremu 11-aza-4-*O*-kladinozil-6-*O*-desozaminil-15-etil-7,13,14-trihidroksi-3,5,7,9,12,14-heksametil-oksakiklopentadekan-2-ona i njegovih derivata, jug. pat. prijava (prioritet) P-768/79 (2. 4. 1979.); patent YU 43116 B (30.4.1989); 11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A and derivatives thereof as well as a process for their preparation, patent US 4,328,334 (4. 5. 1982.).
35. S. Đokić, G. Kobrehel, G. Lazarevski, N. Lopotar, Z. Tamburašev, B. Kamenar, A. Nagl, I. Vicković, Erythromycin series. Part 11. Ring Expansion of Erythromycin A Oxime by the Beckmann Rearrangement, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.* **1** (1986) 1881–1890.
36. S. Đokić, G. Kobrehel, G. Lazarevski, Erythromycin series XII. Antibacterial *in vitro* evaluation of 10-dihydro-10-deoxo-11-azaerythromycin A: Synthesis and structure-activity relationship of its acyl derivatives, *J. Antibiot.* **40** (7) (1987) 1006–1015.
37. G. Lazarevski, G. Kobrehel, A. Naranda, Z. Banić Tomišić (PLIVA), Novi sekomakrolidi iz reda eritromicina A i postupak za njihovo dobivanje, hrv. pat. prijava (prioritet) HR 97/0141 (12. 3. 1997.); patent US 6,077,944 (20. 6. 2000.).
38. G. Lazarevski, G. Kobrehel, A. Naranda, Z. Banić Tomišić, B. Metelko, Acid catalyzed ring opening reactions of 6-deoxy-9-deoxo-9a-aza-9a-homoerythromycin A 6,9-cyclic imino ether, *J. Antibiotics* **51** (9) (1998) 893–896.
39. G. Kobrehel, S. Đokić (PLIVA), Postupak za pripremu *N*-metil-11-aza-10-deokso-10-dihidro-eritromicina A i njegovih derivata, jug. pat. prijava (prioritet) P-592/81 (6. 3. 1981.); patent YU 43006 B (28. 2. 1989.); Nouveaux dérivés de l'érythromycine A, procédé pour leur préparation et leur utilisation comme substances anti-bactériennes, patent BE 892.357 (1. 7. 1982.); 11-methyl-11-aza-4-*O*-cladinose-6-*O*-desosaminyl-15-ethyl-7,13,14-trihydroxy-3,5,7,9,12,14-hexamethyl-oxacyclopentadecane-2-one and derivatives thereof, patent US 4,517,359 (14. 5. 1985.).
40. S. Đokić, G. Kobrehel, N. Lopotar, B. Kamenar, A. Nagl, D. Mrvoš, Erythromycin Series. Part 13. Synthesis and Structure Elucidation of 10-Dihydro-10-deoxo-11-methyl-11-azaerythromycin A, *J. Chem. Research (S)* (1988) 152–153; *J. Chem. Res. (M)* (1988) 1239–1261.
41. G. Kobrehel, S. Đokić (PLIVA), Postupak za pripremu 7,16-diokska-2-aza-10-*O*-kladinozil-12-*O*-desozaminil-4,5-dihidroksi-6-etil-3,5,9,11,13,15-heksametilbiciklo/11.2.1/heksa-deka-1/2/-en-8-ona, jug. pat. prijava P-2764/82 (14. 12. 1982.); patent YU 43106 B (28. 2. 1989.).
42. G. Kobrehel, S. Đokić (PLIVA), Postupak za pripremu 11-aza-4-*O*-kladinozil-6-*O*-desozaminil-15-etil-7,13,14-trihidroksi-3,5,7,9,12,14-heksametil-oksakiklopentadekan-2,10-diona i njegovih acil derivata, jug. pat. prijava (prioritet) P-651/83 (17. 3. 1983.); patent YU 44222 B (30. 4. 1990.).
43. N. Lopotar, G. Kobrehel, M. Čorić, S. Đokić (PLIVA), Postupak za pripremu 7,16-diokska-2-aza-10-*O*-kladinozil-12-*O*-desozaminil-4,5-dihidroksi-6-etil-3,5,9,11,13,15-heksametil-biciklo/11.2.1/heksadeka-1/2/-en-8-ona, jug. pat. prijava (prioritet) P-1553/83 (18. 7. 1983.); patent YU 43658 B (31. 10. 1989.); eu. pat. prijava EP 0 137 132 A3 (2. 4. 1986.); patent HU 194 272 B (28. 1. 1988.).
44. Z. Vajtner, N. Lopotar, G. Kobrehel, S. Đokić (PLIVA), Postupak za pripremu 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A elektrokemijskom reakcijom, jug. pat. prijava (prioritet) P-340/85 (4. 3. 1985.); patent YU 43402 B (30. 6. 1989.); patent AT 387 391 B (10. 1. 1989.).
45. Z. Vajtner, N. Lopotar, S. Đokić (PLIVA), Postupak za pripremu kompleksa *N*-metil-11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A i 11-aza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A s metalima, jug. pat. prijava (prioritet) P-1592/86 (12. 9. 1986.); patent HR P930887 B1 (30. 4. 1996.); patent EP 0 259 789 B1 (15. 7. 1992.).
46. S. Đokić, Z. Vajtner, H. Krnjević, N. Lopotar, L. Kolačny-Babić (PLIVA), Novi kompleksi odnosno helati antibiotika s dvovalentnim i/ili trovalentnim metalima i postupci za njihovo dobivanje, jug. pat. prijava (prioritet) P-455/90, (7. 3. 1990.); patent HR P940256 B1 (31. 10. 1998.); patent US 5,498,699 (12. 3. 1996.); patent EP 0 445 743 B1 (25. 9. 1996.).
47. G. Kobrehel, G. Lazarevski, S. Đokić (PLIVA), *O*-metil derivati azitromicina, metode i intermedijeri za njihovo dobivanje, te metode pripreme i upotrebe kao farmaceutskih preparata, jug. pat. prijava (prioritet) P-1409/90 (18. 7. 1990.); patent HR P920491 B1 (31. 10. 1998.); patent US 5,250,518 (5. 10. 1993.); patent EP 0 467 331 B1 (2. 11. 1995.).
48. G. Radobolja, Z. Tamburašev, T. Lazarevski, S. Đokić, Erythromycin series. IX. Acid Solvolysis of *N*-4-Substituted Benzensulfonyl/Erythromycilamines, *Croat. Chem. Acta* **58** (1985) 219.
49. T. Tambić, S. Đokić, D. Davila, L. Kolačny-Babić, Erythromycin series 14. Antibacterial activity of 15-membered macrolide antibiotic azithromycin. *Acta Pharm. Jugosl.* **39** (1989) 233.
50. S. Gamulin, S. Šimaga, S. Đokić, Erythromycin series. Part 16. Determination of serum protein binding of erythromycin and azithromycin. *Period. Biol.* **91** (1989) 235.
51. G. Kobrehel, G. Lazarevski, S. Đokić, L. Kolačny-Babić, Synthesis and antibacterial activity of *O*-methylazithromycin derivatives, *J. Antibiotics* **45** (4) (1992) 527–534.
52. N. Kujundžić, G. Kobrehel, Z. Banić, Ž. Kelnerić, B. Kojić-Prodić, Azalides: synthesis and antibacterial activity of novel 9a-*N*-(*N'*-substituted carbamoyl and thiocarbamoyl derivatives of 9-deoxo-9a-aza-9a-homoerythromycin A, *Eur. J. Med. Chem.* **30** (1995) 455–462.
53. W. Schönfeld, S. Mutak, Azithromycin and novel azalides, u W. Schönfeld and H. A. Kirst (ur.), *Macrolide Antibiotics*, Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland, 2002, str. 73–95.
54. S. Mutak, Azalides from azithromycin to new azalide derivatives, *J. Antibiot.* **60** (2) (2007) 85–122.
55. Dainippon Sumitomo Pharma, URL: <http://www.ds-pharma.com/> (15. 8. 2011.).
56. SCRIP No. 757, 5.1.1983. str. 143. prenesen sažetak: L. Kolačny-Babić, G. Kobrehel, M. Jakovina, S. Đokić, D. Davilla: Biological activity of 11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A and its derivatives, 3rd Mediterranean Congress of Chemotherapy, 21. – 24. 9. 1982., Dubrovnik, Programme and Abstracts, No. 200, p. 104; Scrip – URL: <http://www.scripintelligence.com/home/> (15. 8. 2011.).

57. N. Lopotar, Wittigova reakcija na eritromicinu A, magistarski rad, Tehnološki fakultet Sveučilišta u Zagreb, Zagreb, 1981.
58. G. M. Bright (Pfizer), N-methyl 11-aza-10-deoxo-10-dihydroerythromycin A, intermediates therefor, SAD pat. prijava (prioritet) US 399401 A (19. 7. 1982.) i US 441981 A (15. 11. 1982.); patent US 4,474,768 (2. 10. 1984.); patent EP 0 101 186 B1 (5. 11. 1986.).
59. G. M. Bright (Pfizer), Antibacterial 9-deoxo-9a-alkyl-9a-aza-9a-homoerythromycin A derivatives and intermediates therefor, SAD pat. prijava (prioritet) US 509538 A (30. 6. 1983.); patent US 4,464,527 (7. 8. 1984.); patent EP 0 132 944 B1 (30. 12. 1986.).
60. Temeljem podataka dobivenih od Državnog zavoda za intelektualno vlasništvo, Zagreb.
61. A. Ambrožić-Paić, Pametan lijek osvaja svijet (intervju s dr. sc. S. Đokićem), *Jugoslavenska ženska revija SVIJET*, *Vjesnik*, Zagreb, 6. 1. 1989., str. 10–11.
62. B. Kamenar, A. Nagl, D. Mrvoš, Strukturno istraživanje 11-metilaza-10-deokso-10-dihidroeritromicina A (DCH₃), X Sastanak kemičara Hrvatske, 16.–18. 2. 1987. i Jugoslavensko savjetovanje o kemijskim opasnostima i sigurnosti u industriji, 19.–20. 2. 1987., Savez kemičara i tehnologa Hrvatske i Hrvatsko kemijsko društvo, Zagreb, Sinopsis radova, A-2, str. 29.
63. D. Mrvoš, Pregled strukturnih istraživanja novih makrolidnih antibiotika, Sekcija za nastavu kemije Hrvatskog kemijskog društva, 1. 2. 1988., Zagreb.
64. B. Kamenar, D. Mrvoš-Sermek, I. Vicković, A. Nagl, Structure of 10,10-Dihydro-10-deoxo-10a-methyl-10a-aza-10a-homoerythronolide A, *Acta Cryst. C* **46** (1990) 1964.
65. B. Kamenar, D. Mrvoš-Sermek, Z. Banić, A. Nagl, G. Kobrehel, Crystal and Molecular Structure of 9-deoxo-9a-ethyl-9a-aza-9a-homoerythronolide A, *Croat. Chem. Acta* **64** (2) (1991) 153–160.
66. G. M. Sheldrick, B. Kojić-Prodić, Z. Banić, G. Kobrehel, N. Kujundžić, Structure of 9-deoxo-9a-N-[N'-(4-piridyl)-carbamoyl]-9a-aza-9a-homoerythromycin A and conformational analysis of analogous 9a-aza 15-membered azalides in the solid state, *Acta Cryst. B* **51** (1995) 358–366.
67. G. Lazarevski, M. Vinković, G. Kobrehel, S. Đokić, B. Metelko, D. Vikić-Topić, Conformational analysis of azithromycin by nuclear magnetic resonance spectroscopy and molecular modelling, *Tetrahedron* **49** (3) (1993) 721–730.
68. G. Lazarevski, M. Vinković, G. Kobrehel, S. Đokić, B. Metelko, Conformational analysis of 9-deoxo-9a-aza-9a- and 9-deoxo-8a-aza-8a-homoerythromycin A 6,9-cyclic iminoethers, *Tetrahedron* **50** (42) (1994) 12201–12210.
69. D. J. M. Allen, K. M. Nepveux (Pfizer), Azithromycin dihydrate, međunar. pat. prijava (prioritet) PCT/US87/1612A (9. 7. 1987.) / WO 1989/000576 A1 (26. 1. 1989.); patent US 6,268,489 B1 (31. 7. 2001.); patent EP 0 298 650 B1 (5.2.1992.); patent YU 45075 B (31. 8. 1991.).
70. M. Čorić, B. Prester, J. Fabijanić, K. Ivanišević, D. Grgurić (PLIVA), Postupak za pripravu azitromicin dihidrata iz azitromicin monohidrata, jug. pat. prijava (prioritet) P-638/91 (9. 4. 1991.); hrv. pat. prijava HR 92/1491 (25. 9. 1992.); patent HR P921491 B1 (31. 10. 1999.).
71. Ne želi biti naveden, M. Vinković, M. Orešić, E. Meštrović, A. Danilovski, A. Dumbović, Z. Knežević, G. Lazarevski, D. Filić, D. Cinčić, K. Lazarić, D.-K. Bučar (PLIVA), Rompski pseudo-polimorfi 9-deokso-9a-aza-9a-metil-9a-homoeritromicina A, hrv. pat. prijava (prioritet) HR P20020614A A2 (22. 7. 2002.); M. Dumić, M. Vinković, et al., Amorphous 9-deoxo-9a-aza-9a-methyl-9a-homoerithromycin A, process for preparing the same, and uses thereof, patent US 6,936,591 B2 (30. 8. 2005.).
72. M. Dumić, Z. Knežević, G. Lazarevski, D. Cinčić, D. Filić, K. Lazarić, M. Vinković, M. Orešić, E. Meštrović, A. Danilovski, A. Dumbović, D.-K. Bučar (PLIVA), Izostrukturni pseudopolimorfi 9-deokso-9a-aza-9a-metil-9a-homoeritromicina A, hrv. pat. prijava (prioritet) HR P20020231A A2 (18. 3. 2002.); patent US 7,569,549 B2 (4. 8. 2009.); patent EP 1 485 393 B1 (19. 8. 2009.).
73. ACS, Heroes of Chemistry, URL: http://portal.acs.org/portal/acs/corg/content?_nfpb=true&_pageLabel=PP_SUPER-ARTICLE&node_id=1464&use_sec=false&sec_url_var=region1&_uuid=1fe90247-1104-4f60-8871-fd8b3cf74ffe (30. 9. 2011.).
74. S. Đokić, Utjecaj znanstveno-istraživačkog rada na razvoj radne organizacije PLIVA – Zagreb, II. Jugoslavensko savjetovanje o unapređenju pronalazaštva i tehničkih inovacija u industriji i rudarstvu, SSJ, Rijeka, 1973.
75. S. Đokić, Scientific research and development in the transfer of technology with a special emphasis on the transfer to developing countries, International Workshop. Management of Transfer and Development of Technology in Public Enterprises in Developing Countries, ICPE, Ljubljana, 1978.
76. S. Đokić, Zaštita industrijske svojine, patenti, te povezanost sa standardizacijom, Seminar: "Standardizacija u kemijskoj industriji", DUSH Zagreb, Cavtat, 1978.
77. S. Đokić, Lj. Milosavljević, Technology transfer in the field of pharmaceutical industry in the developing countries. Background Paper, III International Conference "Transfer and development of technology", Savezni zavod za međunarodnu, naučnu, prosvetno-kulturnu i tehničku suradnju, Beograd, 1979.
78. Christopher Kalanje, Leveraging Intellectual Property: Beyond the 'Right to Exclude', World Intellectual Property Organization, URL: http://www.wipo.int/sme/en/documents/leveraging_ip.html (15. 8. 2011.).

SUMMARY

The Story of Azithromycin

Z. Banić Tomišić

The invention of azithromycin (**1**, Figure 1), the active pharmaceutical ingredient of the antibiotic *Sumamed* (Croatian brand name by PLIVA; *Zithromax* by Pfizer in the USA) belongs among the great achievements in the history of science in Croatia. From the viewpoint of commercialization of research results, it may have been one of the greatest. In addition to contributing to science and to medicine, azithromycin has also brought about an improvement in the quality of life on the global level. Owing to its exceptional therapeutic properties, it has come to be one of the most successful antibiotics worldwide. Marking the 30th anniversary of the azithromycin Yugoslav patent application, this paper gives an overview of the research that led to its discovery and comes with a list of papers and patents through which the drug has been made known to the public (Table 1, Figures 4 and 6). The invention was due to the scientists from the Research Institute of the pharmaceutical company PLIVA in Zagreb, Croatia, D. Sc. S. Đokić, M. Sc. G. Kobrehel, D. Sc. G. Lazarevski, and D. Sc. Z. Tamburašev (Figure 3). Azithromycin became the first representative of the new class of 15-membered macrolides known as azalides after the introduction of nitrogen in the macrocycle of erythromycin A (**2**, Figure 1). Its synthesis involved several steps (Figure 2): oximation of erythromycin A, Beckmann rearrangement of erythromycin A oxime with aromatic sulphochlorides, reduction of the produced erythromycin A iminoether, and final methylation of the nitrogen introduced in the macrocycle of erythromycin A. Because of inadequate analytical support in the late 1970s and early 1980s, the precise structure of the LD product (Figure 5) in the Beckmann rearrangement step of azithromycin synthesis was confirmed only later as **7** and not **6** as assumed (Figure 5). Today, azithromycin is known under the common chemical name of 9-deoxy-9a-aza-9a-methyl-homoerythromycin A. This paper also deals with the negotiations and signing of a contract between PLIVA, Croatian pharmaceutical company, the patent holder, and Pfizer, one of the world largest pharmaceutical companies in the field of proprietary research. The dihydrate form of azithromycin is also discussed. The azithromycin (i.e. *Sumamed* and *Zithromax*) story, which dates from the second half of the last century, can be considered as the first and foremost example of successful knowledge and technology transfer in Croatia ever. On their web pages, the World Intellectual Property Organization (WIPO) reports the PLIVA azithromycin story as a case study and excellent example of proactive licensing strategy. For the discovery of azithromycin, in addition to receiving numerous awards, in the year 2000, PLIVA's scientists D. Sc. S. Đokić and M. Sc. G. Kobrehel, together with the representatives from the US-based Pfizer, were granted the honorable titles of "Heroes of Chemistry 2000" by the American Chemical Society (ACS), a non-profit association of American chemists and chemical engineers, and the largest association of scientists in the world. This high award is rightly taken to be also recognition of the achievement of PLIVA's entire team working on azithromycin. The success of azithromycin has placed PLIVA among the few pharmaceutical companies in the world that have developed their own blockbuster drug, and has entitled Croatia to join a small group of nations that have developed a new antibiotic.

Trnsko 12,
10 020 Zagreb, Croatia

Received October 5, 2011
Accepted November 4, 2011